

В.А. ЛИПАТОВ¹, С.В. ЛАЗАРЕНКО¹, К.А. СОТНИКОВ²,
Д.А. СЕВЕРИНОВ¹, М.П. ЕРШОВ¹



К ВОПРОСУ О МЕТОДОЛОГИИ СРАВНИТЕЛЬНОГО ИЗУЧЕНИЯ СТЕПЕНИ ГЕМОСТАТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ АППЛИКАЦИОННЫХ КРОВООСТАНАВЛИВАЮЩИХ СРЕДСТВ

Курский государственный медицинский университет¹, г. Курск,
Городская клиническая больница №1², г. Белгород,
Российская Федерация

В настоящее время интенсивно разрабатываются новые лекарственные средства, влияющие на систему гемостаза, и локально действующие кровоостанавливающие средства. Новые образцы разрабатываемых средств требуют объективного высокоточного сравнительного изучения их эффективности. Однако, несмотря на сложившуюся ситуацию, вопрос выбора методов оценки гемостатической активности лекарственных средств и кровоостанавливающих имплантов (как в клинической практике, так и в эксперименте) остается открытым. В связи с этим авторами были проанализированы современные, наиболее распространенные методики, комбинации оцениваемых показателей гемостаза и методов исследования гемостатической активности лекарственных средств и имплантов (*in vitro* et *in vivo*), описаны преимущества и недостатки данных методов, а также предложены их наиболее эффективные сочетания. Авторы предлагают алгоритм выбора кровоостанавливающих средств, разрабатываемых с целью их применения при оперативных вмешательствах преимущественно на паренхиматозных органах брюшной полости. Алгоритм основан на этапности использования различных методик (I этап – скрининг-исследование физико-механических и гемостатических свойств имплантов методиками *in vitro*, II этап – метод «острого» опыта *in vivo* для определения продолжительности кровотечения и объема кровопотери, III этап – метод «хронического» эксперимента *in vivo* (исследование выраженности реакции тканей животного на имплант при подкожной имплантации и моделированной травме паренхиматозных органов и пр.)), позволяющих всесторонне изучить кровоостанавливающую способность аппликационных гемостатических имплантов и исключить возможные негативные эффекты при их применении.

Ключевые слова: гемостаз, гемостатические средства, паренхиматозные органы, гемостатическая губка, аппликационные импланты, кровотечение, кровопотеря, сгусток

At present new drugs affecting the hemostasis system and locally affecting hemostatic agents are being intensively developed. New types of the developed substances require highly objective and precise comparative methods for efficiency measuring. However, despite the current situation, the choice of methods for assessing the haemostatic activity of drugs and hemostatic implants (both in clinical practice and in experiment) remains open. In this regard, the authors have analyzed most common modern methods, combinations of the evaluated hemostasis indicators and methods for studying hemostatic activity of drugs and implants (*in vitro* and *in vivo*); the advantages and disadvantages of these methods are described and their most effective combinations are proposed. The authors propose the algorithm for the selection of hemostatic agents developed for the purpose of their application in surgical interventions primarily on the parenchymal organs of the abdominal cavity. The algorithm is based on the phasing of using various techniques (I step – a screening study of physic-mechanical and hemostatic properties *in vitro* implant procedures, II step – the method of "acute" experience *in vivo* for determining bleeding time and blood loss volume, III step – the method of "chronic" experiment *in vivo* (investigation of expression of the animal tissue response to the implant after subcutaneous implantation and a simulated parenchymal injury of organs and so forth.), permitting to study comprehensively the hemostatic ability of the topical hemostatic implants and to avoid possible negative effects when they are used.

Keywords: hemostasis, hemostatic agents, parenchymatous organs, hemostatic sponge, application implants, bleeding, blood loss, blood clots

Novosti Khirurgii. 2018 Jan-Feb; Vol 26 (1): 81-95

To the Issue of Methodology of Comparative Study of the Degree
of Hemostatic Activity of Topical Hemostatic Agents

V.A. Lipatov, S.V. Lazarenko, K.A. Sotnikov, D.A. Severinov, M.P. Ershov

Введение

В настоящее время органосохраняющие операции являются одним из приоритетных

направлений современной хирургии. Такая тенденция привела к разработке большого числа местных гемостатических средств. На сегодняшний день на мировом рынке представлено зна-

чительное количество аппликационных кровоостанавливающих имплантов отечественных и зарубежных производителей. Однако многие из них на фоне низкой гемостатической активности обладают слабой адгезивной способностью, что требует фиксации импланта к органу, тем самым нанося ему дополнительное повреждение и, как следствие, усиливая уже имеющееся паренхиматозное кровотечение [1]. Некоторые образцы кровоостанавливающих материалов провоцируют развитие спаечного процесса брюшной полости, а также увеличивают его выраженность, способствуют пролонгированию воспалительного процесса [2]. В связи с этим возникает необходимость разработки стандартизированной методологии исследования кровоостанавливающих имплантов, в частности их гемостатической активности, как в лабораторных условиях, так и в опытах *in vivo*.

Цель. Анализе наиболее распространенных методик изучения степени гемостатической активности аппликационных кровоостанавливающих средств по данным, размещенным в свободном доступе.

Группы гемостатических средств

На сегодняшний день исследователи выделяют несколько групп кровоостанавливающих средств, к которым относят лекарственные средства для заместительной терапии, витамины (группы К), ингибиторы фибринолиза, антидоты гепарина, ангиопротекторы, а также средства локального действия [3, 4].

При наследственных коагулопатиях, а также приобретенном дефиците плазменных факторов (кровопотери, циррозе печени, недостатке витамина К, передозировке антикоагулянтов непрямого действия, механической желтухе и т.д.), обусловленных нарушением или замедлением процессов их синтеза, в клинической практике используют приемы заместительной терапии. Вводимые парентерально средства содержат недостающие элементы системы гемостаза (например, гемопрепараты, содержащие фактор VIII и пр.), антидоты гепарина (протамин сульфат, полибрен) и ингибиторы фибринолиза (аминокапроновая, парааминобензойная и аминотетранциклогексановая кислота, контрикал) и т.п. [5].

Витамин К (викасол, менадион и пр.) является кофактором синтеза так называемых К-зависимых свертывающих факторов (фактор II, V, VII, X, IX), при дефиците которых (или во время прохождения курса лечения антикоагулянтами непрямого действия, вытесняющими нафтохинон из мест синтеза коагуляционных

факторов) развивается кровоточивость, обусловленная нарушением коагуляционного гемостаза (в результате нарушения взаимодействия фактора III, протромбинового комплекса, что сопровождается повреждением сосудистой стенки) [6].

Спектр средств местного действия разнообразен и представлен множеством видов губок, пленок, комбинированных имплантов на основе коллагена, желатина, окисленной целлюлозы, крахмала и пр. Также материал, из которого изготавливают локальные гемостатические средства, может быть пропитан прокоагулянтами (тромбином, фибриногеном, фактором VIII, XIII и т.д.) или веществами, активирующими процессы свертывания крови (аминокапроновой кислотой), способствующими образованию фибриновых и смешанных тромбов в артериолах, венах и капиллярах [7]. Эти средства применяют при кровотечениях из носа, прямой кишки, травмах паренхиматозных органов и других геморрагиях.

В данной статье рассматриваются аспекты выбора методик исследований гемостатической активности только средств локального действия (аппликационных имплантов, коллагеновых губок и т.п.), так как именно они получили широкое распространение в современной хирургии в качестве основного интраоперационного способа остановки кровотечения из паренхиматозных органов (печени, селезенки, почек). К прочим достоинствам локальных гемостатических средств в первую очередь относится то, что они наиболее полно соответствуют основным требованиям, предъявляемым к кровоостанавливающим средствам: обеспечение в минимальный срок полного прекращения капиллярного и паренхиматозного кровотечения; предотвращение возобновления кровотечения; отсутствие раздражающего действия на окружающие ткани; нетоксичность; отсутствие влияния на функцию гемостаза в общем кровотоке [8, 9]. Однако, несмотря на популярность применения указанных материалов, фактически не изученным остается вопрос о выборе самих гемостатических имплантов для оперативного вмешательства, а также наиболее объективного метода оценки их эффективности в качестве основного критерия выбора.

Перечень методов и параметров оценки гемостатической активности аппликационных кровоостанавливающих средств

В исследованиях гемостатической активности кровоостанавливающих средств большинство авторов [10, 11, 12] оценива-

ют изменения (до и после применения испытуемых средств) следующих показателей крови: функциональных параметров (время свертывания, тромбиновое время, протромбиновое время, активированное частичное (парциальное) тромбопластиновое время, продолжительность кровотечения (определяются клоттинговыми тестами), количественных и качественных показателей (времени ретракции кровяного сгустка, активности факторов свертывания, маркеров фибринолиза, маркеров внутрисосудистого свертывания крови). Для этого используют различные инструментальные и аппаратные методики: тромбоэластографию, ротационную тромбоэластометрию (ROTEM), электрокоагулографию [13], тест оценки функционального состояния системы гемостаза, метод изучения гемостатической активности жидких кровоостанавливающих средств, метод сравнительной оценки степени активности матричных (представляющих собой синтетическую основу для нанесения гемостатических средств) лекарственных средств местного действия, определение объема кровопотери по методу Е.М. Левитэ, гистотехнические методики (для определения морфологических изменений в области кровотечения, а также состояния внутренних органов) [14].

В результате проведенного анализа данных отечественной и англоязычной литературы (глубина поиска составляла десять лет), а также контент-анализа интернет-порталов, таких как <http://elibrary.ru/>, <http://cyberleninka.ru/>, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>, <https://scholar.google.ru/>, нами получены данные о частоте применения методик изучения свертывающей способности крови в исследованиях *in vitro* et *in vivo*, которые представлены в таблице 1.

Так, наиболее распространенной методикой исследования гемостатической активности по данным анализа литературных источников является оценка времени свертывания (40%), на втором месте — определение активности факторов свертывания (34%), на третьем месте — время ретракции кровяного сгустка (32%). Основываясь на результатах контент-анализа можно отметить, что в каждой из медицинских библиотек используемые в исследованиях методы оценки свертывающей способности крови различны. Например, на сайте <http://elibrary.ru/>, как и на <http://cyberleninka.ru/>, по количеству совпадений, найденных в результате поискового запроса, лидирует такая методика, как количество тромбоцитов крови (<http://elibrary.ru/> — 24320, <http://cyberleninka.ru/> — 8674), на втором и третьем местах соответственно — ис-

следование продолжительности кровотечения и измерения размеров тромбоцитов, время свертывания крови. Однако, на портале <https://scholar.google.ru/> представлено большинство статей, в которых время свертывания крови является самым популярным методом оценки гемостаза, а количество тромбоцитов крови занимает второе место, продолжительность кровотечения — третье.

Методы исследования гемостатической активности аппликационных кровоостанавливающих средств *in vitro*

Как правило, такие исследования проводят с привлечением доноров-добровольцев (мужчин 20-40 лет, не имеющие острых и хронических, в том числе инфекционных, заболеваний в анамнезе, одинаковую группу крови и резус-фактор) [15].

Одним из наиболее исторически значимых и получивших широкое распространение в клинической практике является метод инструментальной оценки функционального состояния системы гемостаза — тромбоэластография (ТЭГ), которая заключается в регистрации и записи вязкостных характеристик крови и плазмы в процессе их свертывания при помощи модифицированного ротационного вискозиметра с последующим определением показателей тромбоэластограммы, характеризующих исследуемый процесс. Пробу крови (забор венозной крови осуществляют по общепринятой в коагулологии методике) объемом около 1,5 мл помещают в термостатированную кювету электрокоагулографа из фторопласта, прогретую до 37°C, в нее погружают электроды и пропускают переменный ток (частотой 200 Гц), далее измеряют электропроводность крови, производят непрерывную регистрацию и запись (продолжительность от 15 до 30 минут) показателей электрокоагулограммы при помощи подключенного к прибору принтера [16].

По полученному графическому изображению определяют и анализируют амплитудные и хронометрические показатели, характеризующие состояние системы гемостаза (сосудисто-тромбоцитарного и коагуляционного звеньев), а также ретрактивные свойства сгустка и по полученному изображению функциональной кривой электрокоагулографии определяют следующие показатели: t_1 — время, прошедшее от поступления порции крови в кювету до изменения амплитуды функциональной кривой в сторону ее уменьшения на 20 относительных единиц проводимости; t_2 — время снижения

Таблица 1

Частота упоминания на порталах медицинских библиотек показателей гемостаза и методик изучения свертывающей способности крови

Показатели гемостаза / Метод исследования	Количество статей по данным литературы (%)	Количество статей по данным контент-анализа (шт.)			
		http:// elibrary. ru/	http:// cyberleninka. ru/	https:// scholar. google.ru/	https://www. ncbi.nlm.nih. gov/pubmed
Время свертывания	40	1900	5248	39000	1523
Тромбиновое время	20	1985	1334	3120	1531
Протромбиновое время	19	2312	2354	6340	1530
АЧТВ/АПТВ	20	3	4	21	10
Продолжительность кровотечения	30	16799	6054	17000	1453
Количество тромбоцитов в крови	22	24320	8674	20700	1515
Время ретракции кровяного сгустка	32	237	97	480	1506
Размеры тромбоцитов	23	11539	4057	10200	1508
Адгезивно-агрегационная функция тромбоцитов	29	375	334	55	852
Определение активности факторов свертывания	34	8097	3279	16700	1443
Проба на резистентность (ломкость) капилляров	17	139	92	290	1507
Исследование антикоагулянтного звена	14	571	1013	2470	1510
Исследование закономерностей течения фибринолиза	20	759	2375	1140	1510
Определение маркеров фибринолиза	20	1310	1054	2620	1473
Определение маркеров внутрисосудистого свертывания крови	7	841	781	2210	1523
Тромбоэластография	21	279	163	266	1245
Ротационная тромбоэластометрия	22	15	5	33	1296
Электрокоагулография	22	54	113	42	1241
Оценка функционального состояния системы гемостаза	30	6167	4024	12700	1423
Метод изучения гемостатической активности жидких кровоостанавливающих средств	10	2	7	1	931
Метод сравнительной оценки степени активности матричных лекарственных средств местного действия	10	1177	292	1400	1493
Определение объема кровопотери по методу Е.М. Левитэ	4	3	3	12	1510
Морфологические изменения	9	7104	5072	14700	1434

амплитуды функциональной кривой на 100 ед.; $K=(t_2-t_1)/100$ – интенсивность тромбинообразования; сравнивают полученные значения с эталонными: $t_1=8-14$ мин, $t_2=22-28$ мин, $T=54-65$ мин, $K=0,08-0,12$; при увеличении величины показателей относительно нормы определяют состояние гиперкоагуляции, при повышении величины показателей относительно нормы определяют состояние гипокоагуляции. Данный способ является недостаточно точным и малоинформативным в связи с тем, что измерение параметров крови в момент тромбообразования производится в постоянно двигающейся кювете, что приводит к травмированию форменных элементов крови, а также препятствует образованию и ретракции фибрина [17].

Однако при использовании метода электрокоагулографии для оценки кровоостанавливающих свойств хирургических материалов (гемостатических губок) стоит учитывать ряд особенностей, который установлен нами эмпирическим путем в процессе исследования гемостатической активности аппликационных средств [18]. Тестируемый образец не должен флотировать в просвете кюветы, так как в противном случае контакт исследуемого материала с кровью будет неравномерным, что впоследствии повлияет на точность и достоверность полученных результатов. Для этого, предварительно на дно кюветы медицинским клеем фиксируется исследуемый хирургический материал (средства, применяемые в качестве

гемостатических аппликационных имплантов, такие как губки на основе карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ) или коллагена) объемом 1 мм³. Обязательными условиями проведения сравнительного исследования являются стандартизация размеров исследуемых образцов, а также постановка контрольного опыта (в кювете коагулографа находится только необходимый объем нативной крови донора) [19].

Стоит заметить, что данный способ является недостаточно «чувствительным» вследствие того, что в процессе исследования имеет место интенсивное механическое воздействие со стороны измерительной ячейки электрокоагулографа на форменные элементы крови, что приводит к их деструкции, тем самым способствует выходу веществ, участвующих в процессе свертывания крови [20]. Вместе с тем, за счет механического воздействия, вследствие разрушения нитей фибрина нарушается формирование фибриновой сети, что значительно снижает чувствительность, воспроизводимость и точность электрокоагулографии, делает невозможным выявление тонких сдвигов в сложной системе гемостаза [21].

«Способ оценки функционального состояния системы гемостаза» включает помещение пробы крови в емкости, последующее воздействие на нее физическим телом с определенной амплитудой, а также определение амплитудных и хронометрических констант. Пробу помещают в кювету из нержавеющей стали или фторопласта, физическое тело представляет собой цилиндр из нержавеющей стали сечением 0,7 мм, закрепленный на одной из ножек камертона, у основания которого установлены пьезоэлектрические преобразователи; воздействуют на пробу крови с амплитудой колебаний в 1000 раз меньшей толщины жидкого слоя последней, непрерывно регистрируют с помощью соединенного с камертоном потенциометра и записывают изменения вязкости, определяют норму и, при повышении или снижении относительно ее показателей, судят о нарушении в системе гемостаза, причем оценку осуществляют по агрегационной активности компонентов прокоагулянтного звена, продолжительности и силе сокращений сгустка крови и активности фибринолитической системы. Этот метод изучения гемостатической активности считается более информативным, чем способ тромбоэластографии [22].

В последнее время как в клинической, так и в экспериментальной работе наиболее широкое распространение получил метод ротационной тромбоэластометрии (ROTEM), который позволяет исследователю оценить состояние системы гемостаза пациента и, главное, опре-

делить патогенез нарушения свертываемости крови. ROTEM является усовершенствованной формой ТЭГ и позволяет изучить не только кинетику процесса тромбообразования, но и ряд числовых параметров, таких как время начала образования сгустка, время образования сгустка, максимальная плотность сгустка, амплитуда, индекс фибринолиза (степень лизиса сгустка), максимальный лизис (максимальный фибринолиз, обнаруженный в течение анализа, определяется как нахождение самой низкой амплитуды после достижения максимальной плотности сгустка) [23, 24]. Также данный метод позволяет построить графическое изображение изменений упруго-эластических свойств и вязкости крови в процессе образования фибринового сгустка и его последующего лизиса.

Оценка времени свертываемости крови в лабораторных условиях также относится к методам изучения гемостатической активности. В качестве контроля используются показатели крови, полученные без применения гемостатических средств. Для этого на дно пробирок предварительно помещают изучаемые образцы гемостатических имплантов размером 1×1 см, причем одинаковые образцы должны быть помещены сразу в две пробирки. Соблюдая правила асептики, производят пункцию кубитальной вены, под иглу подводят первую пробирку. В момент начала забора крови включают секундомер, в пробирки набирают 1 мл крови, а затем помещают в термостат при температуре 37°С, наклоняя первую пробирку на 60–70 градусов каждые 30 секунд до того момента, пока кровь в ней при наклоне перестанет перемещаться в пробирке. После того, как отмечено время свертывания крови в первой пробирке, каждые 30 секунд [25] начинают наклонять вторую пробирку и регистрируют время свертывания находящейся в ней крови. Оценку времени свертывания проводят по результату второй пробирки, так как перемешивание крови в первой пробирке искусственно ускоряет процесс коагуляции. Значительное влияние субъективного (человеческого) фактора на выполнение описанных выше манипуляций (отсчет времени по секундомеру, вращение пробирок и выбор угла их наклона) значительно снижает чувствительность и точность методики [26].

В научном центре сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева разработан метод изучения гемостатической активности жидких кровоостанавливающих средств с использованием донорской крови, стабилизированной 3,8% раствором цитрата натрия. Степень активности изучается путем добавления в стабилизированную по стандартным методикам кровь

раствора кровоостанавливающего средства по каплям. Свертывание донорской крови при перемешивании стеклянной палочкой в короткие сроки (менее 1 минуты) говорит о хороших кровоостанавливающих свойствах изучаемого лекарственного средства или аппликационных средств [27]. Однако при исследовании данным способом гемостатических лекарственных средств стоит учитывать, что они могут вступить в реакцию нейтрализации с цитратом. В таком случае наименее активным будет выглядеть то лекарственное средство, которое непосредственно усиливает свертывающую способность крови, в отличие от лекарственных средств, нейтрализующих цитрат натрия.

Также подобный метод применяют в качестве одного из способов оценки свойств жидких кровоостанавливающих средств. Для этого в лабораторных условиях в 1 мл крови пациента, стабилизированной 3,8% раствором цитрата натрия, в соотношении 1:9 вводят по каплям 0,1-0,2 мл испытуемого средства. Перемешивают, включают секундомер и в случае появления сгустков крови в течение не более 1 минуты отмечают наличие кровоостанавливающего эффекта. Оценивают сокращение времени исследования без и с использованием испытуемого средства [28].

Кроме этого, возможна оценка массы и объема кровяного сгустка как показателей гемостатической активности имплантов. Для этого венозная кровь доноров в количестве 5 мл помещается в пробирки с градуированной шкалой объема. В течение 3 минут пробирки инкубируют в термостате при температуре 37°C. Далее исследуемый материал помещают в центрифугу на 10 минут при частоте вращения не менее 1500 оборотов в минуту. После удаления сыворотки оставшийся в пробирке сгусток взвешивается. По делениям пробирки также измеряется объем кровяного сгустка [29]. Данный способ измерения не является достаточно точным, так как исследование проводится «на глаз», вследствие чего возникают значительные погрешности в результатах исследования, так как не учитывается минимальная разница в размерах делений, нанесенных на пробирках различных фирм-производителей [19].

Некоторые авторы [30, 31, 32] при оценке гемостатической активности аппликационных кровоостанавливающих имплантов отмечают необходимость проведения исследований физико-механических свойств образцов, таких как гидрофильность, гигроскопичность, адсорбционная и поглощательная способности имплантов, деформация тестируемых материалов при растяжении, продавливании, сжатии [33].

Отметим, что, по нашему мнению, важность таких исследований не стоит преуменьшать, так как это позволит в дальнейшем, опираясь на объективные данные измерений, уменьшить число испытуемых образцов в опытах *in vivo* и избежать неоправданно большого количества опытных животных.

Методы исследования гемостатической активности аппликационных кровоостанавливающих средств *in vivo*

Несмотря на достаточно широкий спектр методов исследования свертывающей способности крови *in vitro*, позволяющих оценить изменения большинства показателей крови, интересующих исследователей в процессе их изысканий, не представляется возможным проводить всестороннюю оценку гемостатической активности аппликационных кровоостанавливающих средств, не используя методы *in vivo*. Поэтому в качестве способа оценки времени остановки кровотечения и объема кровопотери в экспериментальной хирургии используют методику острого эксперимента на мелких лабораторных животных (например, крысах). Под эфирным наркозом животным выполняют срединную лапаротомию, в операционную рану поочередно выводят печень и селезенку, под орган помещают сухую стерильную салфетку с заведомо известной массой. На одну из долей печени наносят рану таким образом, чтобы длина раны составляла 1 см (по касательной к окружности доли печени), а глубина — 0,5 см (в наиболее отдаленном от края месте) [34, 35]. На одном из полюсов селезенки моделируют рану аналогичным образом (длина — 0,5 см, глубина — 0,3 см). После этого на кровоточащую область разреза накладывают гемостатическое средство соответствующих ране размеров. В качестве контроля используют вышеизложенную технологию без применения гемостатических материалов. С помощью секундомера измеряют время от момента нанесения раны до окончательной остановки кровотечения. Величину кровопотери измеряют по методу Е.М. Левитэ путем определения разницы в массе перевязочного материала или аппликационного импланта до проведения оперативного вмешательства и после его пропитывания кровью в ходе операции [36].

В экспериментальной и клинической медицине используют метод сравнительной оценки степени активности нескольких кровоостанавливающих матричных лекарственных средств местного действия, который позволяет при минимальном количестве экспериментов с высокой

степенью достоверности сделать заключение о наличии гемостатических свойств местного действия. Для определения кровоостанавливающей активности лекарственного средства его наносят на рану, а затем оценивают интенсивность кровопотери. При этом учитывают индивидуальные характеристики спонтанно останавливающегося кровотечения (СОК) без гемостатика и интенсивность кровотечения после нанесения гемостатического средства на рану. Гемостатическую активность лекарственных средств выявляют по разнице изменения интенсивности кровотечения между СОК без гемостатического средства и под влиянием кровоостанавливающих матричных лекарственных средств местного действия [37]. Кровотечение из моделированной раны печени при стандартизованных условиях описывается математически формулой экспоненциальной зависимости его интенсивности от времени. Для вывода о превосходстве гемостатической активности одного гемостатика над другим проводят экстраполяцию показателей интенсивности кровотечения на минимальном количестве модельных ран [38].

Общепризнано, что наиболее объективной моделью кровотечения является кровотечение из паренхиматозных органов лабораторных животных, в частности, из стандартизированных ран печени у крыс, а критериями эффективности проявляемой лекарственными средствами активности считается достоверное (при допустимом для медико-биологических исследований уровне $p \leq 0,05$) снижение времени кровотечения (сек) и/или величины кровопотери (мг) по сравнению с показателями СОК и/или с группами сравнения. Время остановки кровотечения определяют по прекращению истечения крови после очередного снятия местного гемостатика [39] (губки, пленчатого импланта и др.) с поверхности раны. Величина кровопотери определяется взвешиванием матрицы до и после пропитывания ее кровью.

Точное установление момента остановки кровотечения в этом случае затруднительно и является весьма субъективной характеристикой с большой вариабельностью ввиду ее травматизации из-за частого возобновления истечения крови после очередного удаления импланта с поверхности раны. Определение величины кровопотери в таком случае также технически затруднительно ввиду истечения биологических жидкостей от органов и тканей, расположенных в непосредственной анатомической близости от оперированного органа [40]. Это влечет за собой необходимость многократных аппликаций материала, сорбирующего кровь, и замыкает «пороч-

ный» круг (кровотечение — аппликация местным гемостатиком — снятие его с поверхности раны — кровотечение) [41]. Однако, данная ситуация близка к таковой в клинике и применяется в качестве критерия во множестве современных исследований (равнозначно как в экспериментальной, так и в контрольной группах).

Для изучения характера и степени выраженности макроскопических и гистологических изменений органов брюшной полости при использовании тестируемых аппликационных средств в хроническом эксперименте *in vivo* (многие авторы при проведении подобных опытов выбирают в качестве объекта исследования кроликов породы шиншилла [7, 8, 11, 19, 36]) выполняют доступ в брюшную полость через верхнесрединный лапаротомный разрез. Плоскостную травму паренхиматозных органов наносят с помощью специального приспособления (окончатой пластины различной формы с окном прямоугольной формы). Травму печени моделируют посредством наложения пластины (размеры окна 10×15 мм) на диафрагмальную поверхность ее средней доли. Повреждение селезенки также производят окончатой пластиной с размерами окна 7×12 мм по верхнелатеральной поверхности. В момент приложения усилия на пластину мягкие ткани, возвышающиеся в окне пластины, резецируют скальпелем в момент проведения им параллельно ее плоскости, в результате чего развивается поверхностное паренхиматозное кровотечение [42, 43], которое останавливают наложением исследуемых аппликационных кровоостанавливающих материалов без их дополнительной фиксации. Операционный разрез ушивают послойно. Животных выводят из эксперимента путем передозировки наркоза на сроках, соответствующих целям исследования (острый или хронический эксперимент).

Далее оценивают изменения структуры гемостатических средств, реакцию брюшины и органов брюшной полости на инородный материал, выраженность спаечного процесса брюшной полости в баллах (например, методом семантического дифференциала), признаки кровотечения в зоне имплантации, а также гистологические изменения (толщину воспалительной капсулы, ее клеточный состав, изменения структуры гепатоцитов и их ядер, диаметр центральной вены, количество клеток Купфера) в месте размещения импланта [44].

Большинство авторов рекомендуют выведение животных на 14 сутки после моделирования травмы органа. Это обусловлено возможностью сравнительного изучения в различных группах макро- и микроморфологических параметров

[33, 45]. Некоторые авторы настаивают на изучении ситуации в брюшной полости и изменений в структуре исследуемых органов в динамике, например, на 3, 7, 14 и 30 сутки после операции [46].

Перспектива рационального использования методик выполнения полостных оперативных вмешательств в качестве способа исследования гемостатической активности кровоостанавливающих средств заключается в проведении таких операций под контролем эндоскопической аппаратуры, что позволит: оценить выраженность макроскопических изменений менее инвазивно, снизить число экспериментальных животных, повысить информативность и точность методики.

Существуют и альтернативные методы моделирования травм печени *in vivo*. А.Е. Pusateri et al. [47] в качестве травмирующего агента используют зажим с зубцами размером 4,5 см Х-образной формы. В данной работе авторы травмируют паренхиму и расположенные в ней структуры зубцами, двукратно накладывая данный инструмент на диафрагмальную поверхность доли печени свиньи доли печени свиньи так, чтобы место второго прокола было левее первого и перекрывало предыдущее на половину его длины. Таким образом моделируется рваная рана печени, гемостаз которой производят с помощью марлевых салфеток с исследуемыми веществами, обладающими кровоостанавливающим эффектом (микрофибриллярным коллагеном, окисленной целлюлозой, тромбином, фибриногеном, пропилгаллатом, сульфатом алюминия, полностью ацетилированным поли-N-ацетил глюкозамином и т.п.), на стороне контакта поверхности салфетки и раны. Салфетка прижимается к ране 4 раза на 1 минуту, затем проводится визуальная оценка кровоостанавливающего эффекта после каждого прижатия [47].

Среди прочих показателей, используемых исследователями для оценки различных свойств гемостатических имплантов, стоит выделить такой тип характеристик образцов, как манипуляционные свойства [48], к которым относят консистенцию, эластичность, силу адгезии, фрагментацию, утолщение кровоостанавливающих имплантов и др. Ввиду высокой вариативности условий макроорганизма и реакций тестируемого образца с тканями лабораторных животных оценку манипуляционных свойств проводят методом экспертных оценок, выделяя необходимые параметры (на усмотрение авторов) и ранжируя их оценку в баллах (например, от 1 до 5).

Комбинации показателей и методов исследования гемостатической активности аппликационных кровоостанавливающих имплантов

Таким образом, проанализировав распространенные в экспериментальной и клинической медицине данные о современной коагулологии, можно отметить, что в настоящее время существует множество методик исследования степени гемостатической активности крово-останавливающих имплантов, а также способов оценки объема кровопотери и инструментального тестирования функционального состояния системы гемостаза. Стоит отметить, что среди исследователей [46, 47, 49, 50] популярны и некоторые комбинации оцениваемых показателей гемостаза и методов исследования гемостатической активности (вероятно, это связано с доступностью определенных методик, а также с некоторым определенным предпочтением среди последователей различных научных школ и исследовательских центров), описанные нами выше, например:

1) время свертывания + продолжительность кровотечения + адгезивно-агрегационная функция тромбоцитов + определение активности факторов свертывания + ТЭГ + электрокоагулография;

2) время свертывания + протромбиновое время + продолжительность кровотечения + исследование антикоагулянтного звена + морфологическое исследование;

3) количество тромбоцитов + время ретракции кровяного сгустка + определение маркеров фибринолиза + ТЭГ + метод изучения гемостатической активности жидких кровоостанавливающих средств;

4) время свертывания + АЧТВ/АПТВ + продолжительность кровотечения + размер тромбоцитов + определение маркеров фибринолиза;

5) время свертывания + время ретракции кровяного сгустка + ТЭГ + оценка функционального состояния системы гемостаза + морфологические исследования.

По нашему мнению, оптимальными комбинациями методик исследования гемостатической активности крови являются комбинации 2 и 5, так как их совокупность в данных исследовательских комплексах дает возможность получить разносторонние данные о показателях крови достаточно быстро, а также оценить их изменения в динамике. Это, в свою очередь, позволяет рекомендовать такие комбинации методов исследования для изучения гемостатической активности аппликационных кровоостанавливающих средств.

Для более объективного сравнения описанных выше методик нами предложены следующие критерии: продолжительность выполнения методики (период времени, за который будут получены результаты исследования), количество оцениваемых параметров, количество и доступность реактивов/расходных материалов, объем крови, необходимый для исследования, техническая сложность забора крови и материалов для исследования. Каждый из критериев оценивали по пятибалльной шкале (5 — максимальное (наилучшее) значение, 1 — минимальное (худшее)), опираясь на данные литературы, а также мнение 10 хирургов-экспериментаторов, занимающихся исследованиями проблем гемостаза в хирургии. Результаты сравнительного анализа методик, приведенных выше в классификации, представлены в таблице 2.

Согласно результатам, приведенным в таблице 2, наиболее оптимальными являются методики, набравшие большее количество баллов, такие как: тромбоэластография (18 баллов), ROTEM (20 баллов — максимальное значение среди представленных), электрокоагулография (18 баллов), а также морфологическое (гистологическое) исследование (17 баллов).

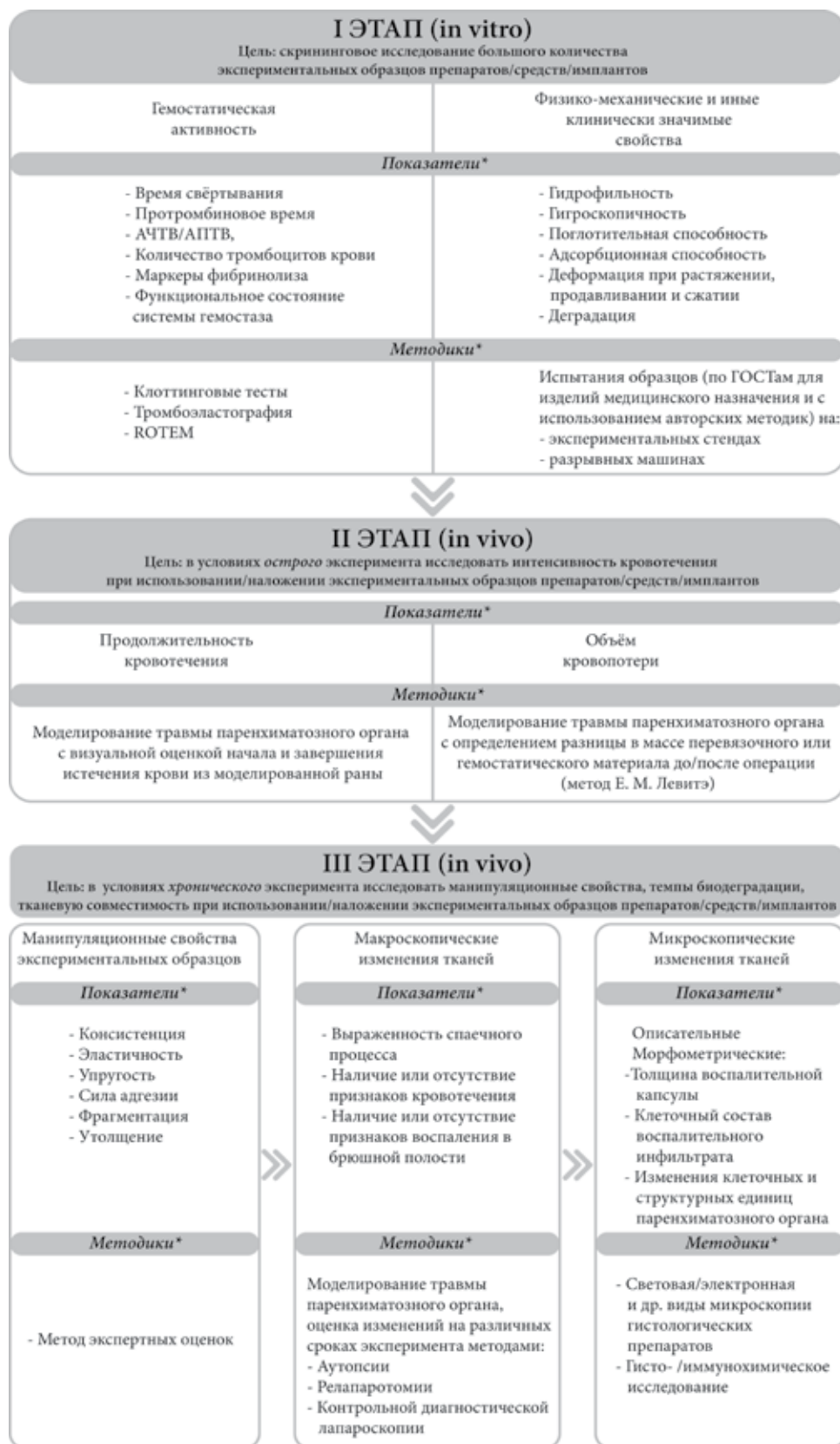
Однако использование лишь одной методики (из общего числа способов *in vitro* et *in vivo*)

в качестве основного критерия оценки эффективности кровоостанавливающих имплантов не представляется целесообразным, так как оценка гемостатической активности гемостатических средств с помощью методик *in vitro* приближена, но не эквивалентна физиологическим процессам, происходящим в организме. Моделирование процесса гемостаза вне организма всегда весьма условно и не может учесть всего многообразия реакций, происходящих в макроорганизме, что, конечно, снижает достоверность полученных результатов. Методики *in vivo* лишены вышеперечисленных недостатков, но, в свою очередь, сопряжены с этическими сложностями и финансовыми издержками, связанными с использованием лабораторных животных, а также с высокой погрешностью таких исследований ввиду индивидуальных особенностей макроорганизма, условий содержания животных в экспериментальной лаборатории до и после проведения оперативных вмешательств.

Тем не менее, использование многих критериев гемостатической активности кровоостанавливающих имплантов практически невозможно без использования моделей *in vivo*. Также при исследовании всякого рода имплантов стоит учитывать их биосовместимые свойства (в частности, реакцию тканей на введение

Таблица 2
Сравнительная характеристика распространенных методик исследования свертывающей способности крови и показателей гемостаза

Метод исследования	Продолжительность выполнения	Количество оцениваемых параметров	Количество и доступность реактивов	Объем крови для исследования	Технические сложности забора крови	Сумма баллов
Время свертывания	4	3	3	3	3	16
Тромбиновое время	4	3	3	2	3	15
Протромбиновое время	3	2	3	4	3	15
АЧТВ/АПТВ	3	3	2	3	3	14
Продолжительность кровотечения	5	4	1	4	1	15
Время ретракции кровяного сгустка	5	2	1	4	3	15
Определение активности факторов свертывания	4	2	1	3	4	14
Определение маркеров фибринолиза	4	3	3	1	2	13
Определение маркеров внутрисосудистого свертывания крови	2	4	4	2	3	15
Тромбоэластография	5	4	2	3	4	18
ROTEM	5	5	5	4	1	20
Электрокоагулография	5	4	4	4	1	18
Оценка функционального состояния системы гемостаза	3	2	2	3	4	14



* Все показатели и методики ранжированы по мере убывания частоты их использования в исследованиях

Рис. Алгоритм выбора методик исследования эффективности аппликационных кровоостанавливающих средств для оперативных вмешательств на паренхиматозных органах (разработан коллективом авторов – Липатов В.А., Лазаренко С.В., Сотников К.А., Северинов Д.А., Ершов М.П.).

в полости организма изделий медицинского назначения с целью остановки или профилактики внутрибрюшного кровотечения).

Заключение

По нашему мнению, следует придерживаться следующей последовательности (рис.) в исследовании гемостатической активности кровоостанавливающих средств: в первую очередь провести скрининг образцов с помощью методик *in vitro*, для того чтобы убедиться в наличии и выраженности гемостатических свойств кровоостанавливающих имплантов. Далее, в остром опыте, важно оценить эффективность гемостатического действия тестируемых образцов посредством проведения острого эксперимента на лабораторных животных. В качестве заключительного этапа мы рассматриваем метод хирургического эксперимента (хронический опыт) *in vivo*, по результатам которого делают заключение о безопасности и тканевой совместимости изучаемых гемостатиков.

Исходя из этого, можно сделать вывод о том, что исследование эффективности и безопасности применения кровоостанавливающих имплантов необходимо проводить, основываясь на комплексном подходе, последовательно (этапно) используя различные методики (как *in vitro*, так и *in vivo*).

ЛИТЕРАТУРА

1. Маховский ВВ. Состояние проблемы и пути оптимизации органосохраняющей тактики в хирургии селезенки. *Вопр Реконструкт и Пласт Хирургии*. 2014;17(3):42-55.
2. Жаворонок ИС, Кондратенко ГГ, Гапанович ВН, Есепкин АВ, Карман АД. Остановка паренхиматозного кровотечения из печени с помощью гемостатического средства на основе неорганических солей. *Новости Хирургии*. 2016;24(4):361-67. doi: 10.18484/2305-0047.2016.4.361.
3. Кобелевская НВ. Современные аспекты лекарственной гемостатической терапии. *Вестн Последиплом Мед Образования*. 2014;(3):5-9.
4. Чередников ЕФ, Кашурникова МА, Романцов МН, Баранников СВ, Болховитинов АЕ, Гапоненков ДГ, Любимов ПЮ. Экспериментальное изучение новых средств местного гемостаза в лечении язвенных кровотечений. *Науч-Мед Вестн Центрального Черноземья*. 2016;(65):27-33.
5. Нешина ЕИ, Скворцова РГ, Кузьменко ВВ. Система гемостаза (вопросы и ответы). 2-е изд. Иркутск, РФ: РИО ИГИУВа; 2011. 48 с.
6. Schick KS, Fertmann JM, Jauch KW, Hoffmann JN. Prothrombin complex concentrate in surgical patients: retrospective evaluation of vitamin K antagonist reversal and treatment of severe bleeding. *Crit Care*. 2009;13(6):R191. doi: 10.1186/cc8186.
7. Samudrala S. Topical hemostatic agents in surgery: a surgeon's perspective. *AORN J*. 2008 Sep;88(3):S2-11. doi: 10.1016/S0001-2092(08)00586-3.
8. Bechstein WO, Strey C. Local and systemic hemostasis in surgery. *Chirurg*. 2007 Feb;78(2):95-96, 98-100. [Article in German]
9. Masci E, Santoleri L, Belloni F, Bottero L, Stefanini P, Faillace G, Gianbattista B, Montinaro C, Mancini L, Longoni M. Topical hemostatic agents in surgical practice. *Transfus Apher Sci*. 2011 Dec;45(Is 3):305-11. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2011.10.013>.
10. Recinos G, Inaba K, Dubose J, Demetriades D, Rhee P. Local and systemic hemostatics in trauma: a review. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*. 2008 Jul;14(3):175-81.
11. Takács I, Wegmann J, Horváth S, Ferencz A, Ferencz S, Jávör S, Odermatt E, Röth E, Weber G. Efficacy of different hemostatic devices for severe liver bleeding: a randomized controlled animal study. *Surg Innov*. 2010 Dec;17(4):346-52. doi: 10.1177/1553350610384405.
12. Lang H, Mouracade P, Gimel P, Bernhard JC, Pignot G, Zini L, Crepel M, Rigaud J, Salomon L, Bellec L, Vaessen C, Roupert M, Jung JL, Mourey E, Martin X, Bigot P, Bruyère F, Berger J, Ansieau JP, Salome F, Hubert J, Pfister C, Trifard F, Gigante M, Baumert H, Mijean A, Patard JJ. National prospective study on the use of local haemostatic agents during partial nephrectomy. *BJU Int*. 2014 May;113(5b):E56-61. doi: 10.1111/bju.12397.
13. Darlington A, Ferreiro JL, Ueno M, Suzuki Y, Desai B, Capranzano P, Capodanno D, Tello-Montoliu A, Bass TA, Nahman NS, Angiolillo DJ. Haemostatic profiles assessed by thromboelastography in patients with end-stage renal disease. *Thromb Haemost*. 2011 Jul;106(1):67-74. doi: 10.1160/TH10-12-0785.
14. Lawson JH, Michael PM. Challenges for providing effective hemostasis in surgery and trauma. *Semin Hematol*. 2004 Jan;41(1):55-64. doi: <http://dx.doi.org/10.1053/j.seminhematol.2003.11.012>.
15. Seegers WH, ed. Blood clotting enzymology. 1th ed. US: Academic Press; 2013. 628 p.
16. Израелян ЛА, Лубнин АЮ, Громова ВВ, Имаев АА, Шмигельский АВ, Степаненко АЮ. Тромбоэластография как метод предоперационного скрининга состояния системы гемостаза у нейрохирургических больных. *Анестезиология и Реаниматология*. 2009;(3):24-30.
17. Нетяга АА, Майстренко АН, Бежин АИ, Липатов ВА, Чижигов ГМ, Семенихина ЛВ, Гомон МС, Бобровская ЕА. Способ сравнительной оценки гемостатических свойств хирургических материалов. Патент Рос Федерации 2373532. 20.11.09.
18. Чижигов ГМ, Бежин АИ, Иванов АВ, Майстренко АН, Липатов ВА, Нетяга АА, Жуковский ВА. Экспериментальное изучение новых средств местного гемостаза в хирургии печени и селезенки. *Курск Науч-Практ Вестн «Человек и его Здоровье»*. 2011;(1):19-25.
19. Таркова АР, Чернявский АМ, Морозов СВ, Григорьев ИА, Ткачева НИ, Родионов ВИ. Гемостатический материал местного действия на основе окисленной целлюлозы. *Сиб Науч Медй Журн*. 2015;35(2):11-15.
20. Абзаева КА, Зеленков ЛЕ. Современные локальные гемостатики и уникальные представители их нового поколения. *Изв Акад Наук*. 2015;(6):1233-39.
21. Shi X, Fang Q, Ding M, Wu J, Ye F, Lv Z, Jin J. Microspheres of carboxymethyl chitosan, sodium alginate and collagen for a novel hemostatic in vitro

- study. *J Biomater Appl.* 2016 Feb;30(7):1092-102. doi: 10.1177/0885328215618354.
22. Тютрин ИИ, Паршин АН, Пчелинцев ОЮ. Способ оценки функционального состояния системы гемостаза. Патент Рос Федерации 5062553/14. 06.27.1996.
23. Гриневич ТН, Наумов АВ, Лелевич СВ. Ротационная тромбоэластометрия (ROTEM). *Журн ГрГМУ.* 2010;(1):7-9.
24. Гриневич ТН. Ротационная тромбоэластометрия Rotem как новый перспективный метод оценки системы гемостаза у пациентов травматологического профиля. *Новости Хирургии.* 2010;18(2):115-22.
25. Варданян АВ, Ройтман ЕВ, Мумладзе РБ, Марков ИН, Малишава НВ. Диагностика нарушений гемостаза для прогнозирования и профилактики венозных тромбоэмболических осложнений. *Бюл Научн Центра Сердеч-Сосуд Хирургии им АН Бакулева РАМН. Сердеч-Сосуд Заболевания.* 2007;8(2):5-13.
26. Kheirabadi BS, Sieber J, Bukhari T, Rudnicka K, Murcin LA, Tuthill D. High-pressure fibrin sealant foam: an effective hemostatic agent for treating severe parenchymal hemorrhage. *J Surg Res.* 2008 Jan;144(1):145-50. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jss.2007.02.012>.
27. Межнева ВВ, Самсонова НН, Плющ МГ, Костава ВТ. Экспериментальные исследования гемостатической активности жидких кровоостанавливающих средств. *Бюл Научн Центра Сердеч-Сосуд Хирургии им АН Бакулева РАМН. Сердеч-Сосуд Заболевания.* 2007;8(2):71-75.
28. Адамян АА, Глянцев СП, Кашперский ЮП, Макаров ВА, Тимин ЕН. Способ выявления и сравнительной оценки гемостатической активности кровоостанавливающих матричных препаратов местного действия. Патент Рос Федерации 2127428. 03.10.1999.
29. Kim SH, Yoon HS, In CH, Kim KS. Efficacy evaluation of SurgiGuard® in partially hepatectomized pigs. *Korean J Hepatobiliary Pancreat Surg.* 2016 Aug;20(3):102-9. doi: 10.14701/kjhbps.2016.20.3.102.
30. Baker-Groberg SM, Phillips KG, McCarty OJ. Quantification of volume, mass, and density of thrombus formation using brightfield and differential interference contrast microscopy. *J Biomed Opt.* 2013 Jan;18(1):16014. doi: 10.1117/1.JBO.18.1.016014.
31. Öllinger R, Mihaljevic AL, Schuhmacher C, Bektaş H, Vondran F, Kleine M, Sainz-Barriga M, Weiss S, Knebel P, Pratschke J, Troisi RL. A multicentre, randomized clinical trial comparing the Veriset haemostatic patch with fibrin sealant for the management of bleeding during hepatic surgery. *HPB (Oxford).* 2013 Jul;15(7):548-58. doi: 10.1111/hpb.12009.
32. Сафронова ЕЮ, Нюшко КМ, Алексеев БЯ, Калпинский АС, Поляков ВА, Каприн АД. Способы осуществления гемостаза при выполнении резекции почки. *Исследование и Практика в Медицине – Research'n Practical Medicine Journal* 2016;3(1):58-65. doi: 10.17709/2409-2231-2016-3-1-8.
33. Герасимов ДА, Новикова НВ, Липатов ВА, Тельнов АН. Экспериментальная оценка динамики и степени биодеградации новых образцов кровоостанавливающих имплантатов на основе карбоксиметилцеллюлозы. *Забайкал Мед Вестн.* 2016;(1):81-85.
34. Matonick JP, Hammond J. Hemostatic efficacy of EVARREST, Fibrin Sealant Patch vs. TachoSil® in a heparinized swine spleen incision model. *J Invest Surg.* 2014 Dec;27(6):360-5. doi: 10.3109/08941939.2014.941444.
35. Константинова ЮЕ, Абросимова НВ, Сотников КА, Липатов ВА. Показатели кровоостанавливающей активности губок на основе карбоксиметилцеллюлозы. *Здоровье и Образование в XXI веке.* 2016;18(1): 142-44.
36. Charlesworth TM, Agthe P, Moores A, Anderson DM. The use of haemostatic gelatin sponges in veterinary surgery. *J Small Anim Pract.* 2012 Jan; 53(1):51-56. doi: 10.1111/j.1748-5827.2011.01162.x.
37. Горский ВА, Фаллер АП, Ованесян ЭР, Андрейцев ИЛ, Белоус ГГ, Суходулов АМ. Гемостатические возможности препарата «ТахоКомб». *Альм Клин Медицины.* 1999;(2):129-34.
38. Zacharoulis D, Lazoura O, Sioka E, Tzovaras G, Rountas C, Spiropoulos S, Zahari E, Chatzitheofilou C. Radiofrequency-assisted hemostasis in a trauma model: a new indication for a bipolar device. *J Laparosc Adv Surg Tech A.* 2010 Jun;20(5):421-26. doi: 10.1089/lap.2009.0324.
39. Simo KA, Hanna EM, Imagawa DK, Iannitti DA. Hemostatic Agents in Hepatobiliary and Pancreas Surgery: A Review of the Literature and Critical Evaluation of a Novel Carrier-Bound Fibrin Sealant (TachoSil). *ISRN Surg.* 2012;2012:729086. doi: 10.5402/2012/729086.
40. Белозерская ГГ, Макаров ВА, Абоянц РК, Малихина ЛС. Аппликационное средство гемостаза при капиллярнопаренхиматозном кровотечении. *Хирургия Журн им НИ Пирогова.* 2004;(9):55-59.
41. Polidoro DP, Kass PH. Evaluation of a gelatin matrix as a topical hemostatic agent for hepatic bleeding in the dog. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2013 Sep-Oct;49(5):308-17. doi: 10.5326/JAANA-MS-5927.
42. Кудло ВВ, Киселевский ЮМ. Изменения показателей биохимического анализа крови при закрытии раны печени салником, ТахоКомбом и Фторопластом-4 в эксперименте. *Журн ГрГМУ.* 2016;(2):50-54.
43. Малков ИС, Коробков ВН, Филиппов ВА. Хирургическая тактика при травмах селезенки. *Educatio.* 2015;(6):127-30.
44. Петлах ВИ. Роль местных гемостатиков при оказании хирургической помощи больным и пораженным. *Гл врач Юга России.* 2014;(5):12-13.
45. Dutton RP. Haemostatic resuscitation. *Br J Anaesth.* 2012;109 (Suppl_1):i39-i46. doi: <https://doi.org/10.1093/bja/aes389>.
46. Qiu Y, Zhu YY, Yan YJ, Chen N, Chen ZL. Study on preparation of fibrinogen-loaded poly (L-lactic) acid nano-fabrics and its haemostatic performance in swine traumatic haemorrhage models. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2014 Jul;25(5):486-91. doi: 10.1097/MBC.0000000000000090.
47. Pusateri AE, Modrow HE, Harris RA, Holcomb JB, Hess JR, Mosebar RH, Reid TJ, Nelson JH, Goodwin CW Jr, Fitzpatrick GM, McManus AT, Zolock DT, Sondeen JL, Cornum RL, Martinez RS. Advanced hemostatic dressing development program: animal model selection criteria and results of a study of nine hemostatic dressings in a model of severe large venous hemorrhage and hepatic injury in Swine. *J Trauma.* 2003 Sep;55(3):518-26.
48. Siemer S, Lahme S, Altziebler S, Machtens S, Strohmaier W, Wechsel HW, Goebell P, Schmeller N, Oberneder R, Stolzenburg JU, Becker H, Lüftenegger W, Tetens V, Van Poppel H. Efficacy and safety of TachoSil as haemostatic treatment versus standard suturing

in kidney tumour resection: a randomised prospective study. *Eur Urol*. 2007 Oct;52(4):1156-63.

59. Андреев АИ, Ибрагимов РА, Кузнецов МВ, Фатыхов АМ, Анисимов АЮ. Опыт клинического применения гемостатического средства «Гемоблок» в хирургической практике. *Казан Мед Журн*. 2015;96(3):451-55. doi: 10.17750/KMJ2015-451.

50. Масляков ВВ, Ермилов ПВ, Поляков АВ. Виды операция на селезенке при ее травме. *Успехи Современ Естествознания*. 2012;(7):29-35.

REFERENCES

1. Makhovsky VV. State of the problem and ways to optimize organ- preserving surgery tactics in spleen. *Vopr Rekonstrukt i Plast Khirurgii*. 2014;17(3):42-55. (in Russ.)

2. Zhavoronok IS, Kondratenko GG, Gapanovich VN, Esepkin AV, Karman AD. The arrest of bleeding from the liver parenchyma by using an inorganic hemostatic agents. *Novosti Khirurgii*. 2016;24(4):361-67. doi: 10.18484/2305-0047.2016.4.361. (in Russ.)

3. Kobelevskaya NV. Sovremennye aspekty lekarstvennoi gemostaticheskoi terapii. *Vestn Poslediplom Med Obrazovaniia*. 2014;(3):5-9. (in Russ.)

4. Cherednikov EF, Kashurnikova MA, Romantsov MN, Barannikov SV, Bolkhovitinov AE, Gaponenkov DG, Liubimov P.Iu. Eksperimental'noe izucheniye novykh sredstv mestnogo gemostaza v lechenii iazvennykh krvotochenii. *Nauch-Med Vestn Tsentral Chernozem'ia*. 2016;(65):27-33. (in Russ.)

5. Neshina EI, Skvortsova RG, Kuz'menko VV. Sistema gemostaza (voprosy i otvety). 2-e izd. Irkutsk, RF: RIO IGIUVA; 2011. 48 p. (in Russ.)

6. Schick KS, Fertmann JM, Jauch KW, Hoffmann JN. Prothrombin complex concentrate in surgical patients: retrospective evaluation of vitamin K antagonist reversal and treatment of severe bleeding. *Crit Care*. 2009;13(6):R191. doi: 10.1186/cc8186.

7. Samudrala S. Topical hemostatic agents in surgery: a surgeon's perspective. *AORN J*. 2008 Sep;88(3):S2-11. doi: 10.1016/S0001-2092(08)00586-3.

8. Bechstein WO, Strey C. Local and systemic hemostasis in surgery. *Chirurg*. 2007 Feb;78(2):95-6, 98-100. [Article in German]

9. Masci E, Santoleri L, Belloni F, Bottero L, Stefanini P, Faillace G, Gianbattista B, Montinaro C, Mancini L, Longoni M. Topical hemostatic agents in surgical practice. *Transfus Apher Sci*. 2011 Dec;45(1):305-11. https://doi.org/10.1016/j.transci.2011.10.013

10. Recinos G, Inaba K, Dubose J, Demetriades D, Rhee P. Local and systemic hemostatics in trauma: a review. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*. 2008 Jul;14(3):175-81.

11. Takács I, Wegmann J, Horváth S, Ferencz A, Ferencz S, Jávör S, Odermatt E, Röth E, Weber G. Efficacy of different hemostatic devices for severe liver bleeding: a randomized controlled animal study. *Surg Innov*. 2010 Dec;17(4):346-52. doi: 10.1177/1553350610384405.

12. Lang H, Mouracade P, Gimel P, Bernhard JC, Pignot G, Zini L, Crepel M, Rigaud J, Salomon L, Bellec L, Vaessen C, Roupert M, Jung JL, Mourey E, Martin X, Bigot P, Bruyère F, Berger J, Ansieau JP, Salome F, Hubert J, Pfister C, Trifard F, Gigante M, Baumert H, Mijean A, Patard JJ. National prospective study on the use of local hemostatic agents during partial nephrectomy. *BJU Int*. 2014 May;113(5b):E56-61.

doi: 10.1111/bju.12397.

13. Darlington A, Ferreira JL, Ueno M, Suzuki Y, Desai B, Capranzano P, Capodanno D, Tello-Montoliu A, Bass TA, Nahman NS, Angiolillo DJ. Hemostatic profiles assessed by thromboelastography in patients with end-stage renal disease. *Thromb Haemost*. 2011 Jul;106(1):67-74. doi: 10.1160/TH10-12-0785.

14. Lawson JH, Michael PM. Challenges for providing effective hemostasis in surgery and trauma. *Semin Hematol*. 2004 Jan;41(1):55-64. doi: http://dx.doi.org/10.1053/j.seminhematol.2003.11.012.

15. Seegers WH, ed. Blood clotting enzymology. 1th ed. US: Academic Press; 2013. 628 p.

16. Israelyan LA, Lubnin AY, Gromova VV, Imaev AA, Shmigelsky AV, Stepanenko AY. Thromboelastography as a method for preoperative screening for the hemostatic system in neurosurgical patients. *Anesteziologiya i Reanimatologiya*. 2009;(3):24-30. (in Russ.)

17. Netyaga AA, Maistrenko AN, Bezhin AI, Lipatov VA, Chizhikov GM, Semenikhina LV, Gomon MS, Bobrovskaya EA. Sposob sravnitel'noi otsenki gemostaticheskikh svoystv khirurgicheskikh materialov. Patent Ros Federatsii 2373532. 20.11.09. (in Russ.)

18. Chizhikov GM, Bezhin AI, Ivanov AV, Maistrenko AN, Lipatov VA, Netyaga AA, Zhukovsky VA. Experimental study of new drugs of local hemostasis in surgery of liver and spleen. *Kursk Nauch-Prakt Vestn "Chelovek i ego Zdorov'e"*. 2011;(1):19-25. (in Russ.)

19. Tarkova AR, Chernyavskiy AM, Morozov SV, Grigor'ev IA, Tkacheva NI, Rodionov VI. Local hemostatic agent based on oxidized cellulose. *Sib Nauch Med Zhurn*. 2015;35(2):11-15. (in Russ.)

20. Abzaeva KA, Zelenkov LE. Modern topical hemostatic agents and unique representatives of their new generation. *Izv Akad Nauk*. 2015;(6):1233-39. (in Russ.)

21. Shi X, Fang Q, Ding M, Wu J, Ye F, Lv Z, Jin J. Microspheres of carboxymethyl chitosan, sodium alginate and collagen for a novel hemostatic in vitro study. *J Biomater Appl*. 2016 Feb; 30 (7):1092-102. doi: 10.1177/0885328215618354.

22. Tiutrin II, Parshin AN, Pchelintsev OI. Sposob otsenki funktsional'nogo sostoiianiia sistemy gemostaza. Patent Ros Federatsii 5062553/14. 06.27.1996. (in Russ.)

23. Grinevich TN, Naumov AV, Lelevich SV. Rotary thromboelastometry (ROTEM). *Zhurn GrGMU*. 2010;(1):7-9. (in Russ.)

24. Grinevich TN. Rotation thromboelastometry Rotem as a new perspective method of the hemostasis system evaluation in patients of the traumatological profile. *Novosti Khirurgii*. 2010;18(2):115-22. (in Russ.)

25. Vardanian AV, Roitman EV, Mumladze RB, Markov IN, Malishava NV. Diagnostika narusheniya gemostaza dlia prognozirovaniia i profilaktiki venoznykh tromboembolicheskikh oslozhnenii. *Biul Nauchn Tsentra Serdech-Sosud Khirurgii im AN Bakuleva RAMN. Serdech-Sosud Zabolevaniia*. 2007;8(2):5-13. (in Russ.)

26. Kheirabadi BS, Sieber J, Bukhari T, Rudnicka K, Murcin LA, Tuthill D. High-pressure fibrin sealant foam: an effective hemostatic agent for treating severe parenchymal hemorrhage. *J Surg Res*. 2008 Jan;144(1):145-50. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.jss.2007.02.012.

27. Mezheva VV, Samsonova NN, Pliushch MG, Kostava VT. Eksperimental'nye issledovaniia gemostaticheskoi aktivnosti zhidkikh krovoostanavlivaushchikh sredstv. *Biul Nauchn Tsentra Serdech-Sosud Khirurgii im AN Bakuleva RAMN. Serdech-Sosud Zabolevaniia*. 2007;8(2):71-75. (in Russ.)

28. Adamian AA, Gliantsev SP, Kashperskii IuP, Makarov VA, Timin EN. Sposob vyivleniia i sravnitel'noi otsenki gemostaticheskoi aktivnosti krovoostanavlivaushchikh matrichnykh preparatov mestnogo deistviia. Patent Ros Federatsii 2127428. 03.10.1999. (in Russ.)
28. Kim SH, Yoon HS, In CH, Kim KS. Efficacy evaluation of SurgiGuard® in partially hepatectomized pigs. *Korean J Hepatobiliary Pancreat Surg.* 2016 Aug;20(3):102-9. doi: 10.14701/kjhbps.2016.20.3.102.
30. Baker-Groberg SM, Phillips KG, McCarty OJ. Quantification of volume, mass, and density of thrombus formation using brightfield and differential interference contrast microscopy. *J Biomed Opt.* 2013 Jan;18(1):16014. doi: 10.1117/1.JBO.18.1.016014.
31. Öllinger R, Mihaljevic AL, Schuhmacher C, Bektaş H, Vondran F, Kleine M, Sainz-Barriga M, Weiss S, Knebel P, Pratschke J, Troisi RL. A multicentre, randomized clinical trial comparing the Veriset haemostatic patch with fibrin sealant for the management of bleeding during hepatic surgery. *HPB (Oxford).* 2013 Jul;15(7):548-58. doi: 10.1111/hpb.12009.
32. Safronova Elu, Niushko KM, Alekseev Bla, Kalpinski AS, Poliakov VA, Kaprin AD. Sposoby osushchestvleniia gemostaza pri vypolnenii rezeksii pochki. *Research'n Practical Medicine Journal.* 2016;3(1):58-65. doi: 10.17709/2409-2231-2016-3-1-8. (in Russ.)
32. Gerasimov DA, Novikova NV, Lipatov VA, Tel'nov AN. Eksperimental'naia otsenka dinamiki i stepeni biodegradatsii novykh obraztsov krovoostanavlivaushchikh implantatov na osnove karboksimetiltseiliulozy. *Zabaiikal Med Vestn.* 2016;(1):81-85. (in Russ.)
34. Matonick JP, Hammond J. Hemostatic efficacy of EVARREST, Fibrin Sealant Patch vs. TachoSil® in a heparinized swine spleen incision model. *J Invest Surg.* 2014 Dec; 27 (6):360-65. doi: 10.3109/08941939.2014.941444.
35. Konstantinova YE, Abrosimova NV, Sotnikov KA, Lipatov VA. The indices of haemostatic activity of applicative hemostatic sponges made on the base of carboxymethylcellulose. *Zdorov'e i Obrazovanie v XXI veke.* 2016;18(1): 142-44. (in Russ.)
36. Charlesworth TM, Agthe P, Moores A, Anderson DM. The use of haemostatic gelatin sponges in veterinary surgery. *J Small Anim Pract.* 2012 Jan; 53(1):51-56. doi: 10.1111/j.1748-5827.2011.01162.x.
37. Gorskii VA, Faller AP, Ovanesian ER, Andreitsev IL, Belous GG, Sukhodulov AM. Gemostaticheskie vozmozhnosti preparata «TakhoKomb». *Al'm Klin Meditsiny.* 1999;(2):129-34. (in Russ.)
38. Zacharoulis D, Lazoura O, Sioka E, Tzovaras G, Rountas C, Spiropoulos S, Zahari E, Chatzitheofilou C. Radiofrequency-assisted hemostasis in a trauma model: a new indication for a bipolar device. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A.* 2010 Jun;20(5):421-6. doi: 10.1089/lap.2009.0324.
39. Simo KA, Hanna EM, Imagawa DK, Iannitti DA. Hemostatic Agents in Hepatobiliary and Pancreas Surgery: A Review of the Literature and Critical Evaluation of a Novel Carrier-Bound Fibrin Sealant (TachoSil). *ISRN Surg.* 2012;2012: 729086. doi: 10.5402/2012/729086.
40. Belozerskaya GG, Makarov VA, Aboyants RK, Malykhina LS. Applicator means hemostasis in capillary-parenchymal hemorrhage. *Khirurgiia Zhurn im NI Pirogova.* 2004;(9):55-59. (in Russ.)
41. Polidoro DP, Kass PH. Evaluation of a gelatin matrix as a topical hemostatic agent for hepatic bleeding in the dog. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2013 Sep-Oct;49(5):308-17. doi: 10.5326/JAAHA-MS-5927.
42. Kudlo VV, Kiselevskii IuM. Izmeneniia pokazatelei biokhimicheskogo analiza krovi pri zakrytii rany pecheni sal'nikom, TakhoKombom i Ftoroplastom-4 v eksperimente. *Zhurn GrGMU.* 2016;(2):50-54. (in Russ.)
43. Malkov IS, Korobkov VN, Filippov VA. Khirurgicheskaiia taktika pri travmakh selezenki. *Educatio.* 2015;(6):127-30. (in Russ.)
44. Petlakh VI. Rol' mestnykh gemostatikov pri okazanii khirurgicheskoi pomoshchi bol'nym i porazhenym. *GI Vrach Iuga Rossii.* 2014;(5):12-13. (in Russ.)
45. Dutton RP. Hemostatic resuscitation. *Br J Anaesth.* 2012;109 (Suppl_1):i39-i46. doi: https://doi.org/10.1093/bja/aes389.
46. Qiu Y, Zhu YY, Yan YJ, Chen N, Chen ZL. Study on preparation of fibrinogen-loaded poly (L-lactic) acid nano-fabrics and its haemostatic performance in swine traumatic haemorrhage models. *Blood Coagul Fibrin.* 2014 Jul;25(5):486-91. doi: 10.1097/MBC.0000000000000090.
47. Pusateri AE, Modrow HE, Harris RA, Holcomb JB, Hess JR, Mosebar RH, Reid TJ, Nelson JH, Goodwin CW Jr, Fitzpatrick GM, McManus AT, Zolock DT, Sondeen JL, Cornum RL, Martinez RS. Advanced hemostatic dressing development program: animal model selection criteria and results of a study of nine hemostatic dressings in a model of severe large venous hemorrhage and hepatic injury in Swine. *J Trauma.* 2003 Sep;55(3):518-26.
48. Siemer S, Lahme S, Altziebler S, Machtens S, Strohmaier W, Wechsel HW, Goebell P, Schmeller N, Oberneder R, Stolzenburg JU, Becker H, Lüftenegger W, Tetens V, Van Poppel H. Efficacy and safety of TachoSil as haemostatic treatment versus standard suturing in kidney tumour resection: a randomised prospective study. *Eur Urol.* 2007 Oct;52(4):1156-63.
49. Andreev AI, Ibragimov RA, Kuznetsov MV, Fatykhov AM, Anisimov AY. Clinical experience of using «Haemoblock» hemostatic solution in surgical practice. *Kazan Med Zhurn.* 2015;96(3):451-55. doi: 10.17750/KMJ2015-451. (in Russ.)
50. Maslyakov VV, Yermilov PV, Polaykov AV. Kinds of operations on the spleen at its trauma. *Uspekhi Sovrem Estestvoznaniia.* 2012;(7):29-35. (in Russ.)

Адрес для корреспонденции

305004, Российская Федерация,
г. Курск, ул. Карла Маркса, д. 3,
Курский государственный
медицинский университет,
кафедра оперативной хирургии
и топографической анатомии
тел. моб.: +7 903 870-89-83,
e-mail: drli@yandex.ru,
Липатов Вячеслав Александрович

Address for correspondence

305004, The Russian Federation,
Kursk, Karl Marks Str., 3,
Kursk State Medical University,
Department of Operative Surgery
and Topographic Anatomy
Tel. mobile: +7 903 870-89-83,
e-mail: drli@yandex.ru,
Lipatov Viacheslav A.

Сведения об авторах

Липатов Вячеслав Александрович, д.м.н., доцент, профессор кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии, Курский государственный медицинский университет.

<http://orcid.org/0000-0001-6121-7412>

Лазаренко Сергей Викторович, к.м.н., ассистент кафедры онкологии, Курский государственный медицинский университет.

<http://orcid.org/0000-0002-7200-4508>

Сотников Константин Александрович, заведующий кабинетом учета и медицинской статистики, врач-рентгенолог, Городская Клиническая Больница №1.

<http://orcid.org/0000-0001-8162-5448>

Северинов Дмитрий Андреевич, студент, Курский государственный медицинский университет. <http://orcid.org/0000-0003-4460-1353>

Ершов Михаил Павлович, студент, Курский государственный медицинский университет.

<http://orcid.org/0000-0002-1747-4689>

Information about the authors

Lipatov Viacheslav A., MD, Ass. Professor, Professor of the Department of Operative Surgery and Topographic Anatomy, Kursk State Medical University, Kursk, Russian Federation.

<http://orcid.org/0000-0001-6121-7412>

Lazarenko Sergej V., PhD, Assistant of the Oncology Department, Kursk State Medical University, Kursk, Russian Federation.

<http://orcid.org/0000-0002-7200-4508>

Sotnikov Konstantin A., Head of the Cabinet of Accounting and Medical Statistics, Radiologist, City Clinical Hospital №1, Kursk, Russian Federation.

<http://orcid.org/0000-0001-8162-5448>

Severinov Dmitriy A., Student, Kursk State Medical University, Kursk, Russian Federation.

<http://orcid.org/0000-0003-4460-1353>

Ershov Mixail P., Student, Kursk State Medical University, Kursk, Russian Federation.

<http://orcid.org/0000-0002-1747-4689>

Информация о статье

Поступила 28 января 2017 г.

Принята в печать 27 апреля 2017 г.

Доступна на сайте 5 февраля 2018 г.

Article history

Arrived 28 January 2017

Accepted for publication 27 April 2017

Available online 5 February 2018